

# **Trabalho de Conclusão de Curso**

## **Biodentes: uma visão geral acerca do seu desenvolvimento**

**Ana Eloiza Costa**

**Universidade Federal de Santa Catarina  
Curso de Graduação em Odontologia**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Ana Eloiza Costa

**BIODENTES: UMA VISÃO GERAL ACERCA DO SEU  
DESENVOLVIMENTO**

Trabalho apresentado ao Curso de graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do grau de cirurgiã- dentista.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Perozzo Daltoé

Florianópolis  
2016



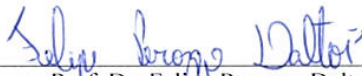
Ana Eloiza Costa

## **BIODENTES: UMA VISÃO GERAL ACERCA DO SEU DESENVOLVIMENTO**

Este trabalho de conclusão de curso foi julgado adequado para obtenção do título de cirurgiã dentista no curso de Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina e aprovado em sua forma final pelo departamento de Odontologia

Florianópolis, 16 de maio de 2016.

### **Banca examinadora:**



---

Prof. Dr. Felipe Perozzo Daltoé  
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



---

Prof.ª Dr.ª Michelle Tillman-Biz  
Universidade Federal de Santa Catarina



---

Profa. Doutoranda Angélica Reinheimer  
Universidade Federal de Santa Catarina



Dedico este trabalho á **Deus** que me deu forças para seguir a graduação após perder minha mãe nesta jornada.

Dedico especialmente á minha **mãe** (*in memoriam*), que foi meu porto e meu apoio enquanto a tive comigo, e sua proteção junto á Deus quando a tive ausente.

Aos meus pais, **Dalvo de Jesus Costa** e **Ignez Raitz Costa** (*in memoriam*), por não medirem esforços para minha formação, por acreditarem e confiarem em mim.

Á minha amada irmã **Paula**, minha segunda mãe, que foi minha maior incentivadora e me deu seu aconchego, amor e proteção ao longo dos anos.





## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por ter me concebido o privilégio da vida. Agradeço por ter me dado a família maravilhosa que tenho e me proporcionar conhecer pessoas com muitos ensinamentos e sabedoria ao longo desta jornada. Agradeço a presença constante de Deus em minha vida, por ter me iluminado em momentos que necessitei, e principalmente a força que Deus está me dando quando mais precisei ao perder meu alicerce e porto seguro, minha mãe. Obrigada Deus, por ter deixado eu ter a mãe que tive.

Agradeço minha amada mãe **Ignez Raitz Costa** (*in memoriam*), que com sua sabedoria e sensatez, me transmitiu os ensinamentos mais valiosos que eu tenho, não há melhor referência de mulher e pessoa do que você, mãe. Perder você no meio desta jornada foi arrebatador, mas com a força que Deus me deu, pude continuar sendo seu orgulho e trilhar meus passos nesta jornada. Agradeço sua firmeza, pois através disto, pude tornar-me a mulher que sou. Agradeço a mulher educadora que você foi, exemplo de mulher, não somente na vida escolar, mas na sociedade. Agradeço seu coração generoso, que não media esforços para ajudar, principalmente os que mais eram negligenciados e não tinham condições de ter uma vida digna, o seu pensar no próximo com certeza me fará ser uma profissional mais humana, e me torna cada dia mais uma pessoa melhor. Obrigada por fazer parte da minha vida, obrigada por ter me proporcionado tantas alegrias, ensinamentos, aprendizado e, principalmente, seu amor, eu sei que onde você está, você está olhando por mim, feliz por eu ter continuando mesmo após sua partida e feliz pela mulher que me tornei.

Agradeço ao meu pai **Dalvo de Jesus Costa** que juntamente com minha mãe, não mediram esforços para minha formação e educação. Agradeço o apoio constante de ambos, para fazer com que eu realizasse meu sonho numa Universidade de referência. Agradeço meu pai, que tem se tornado minha companhia constante e me ajudado incessantemente nesta reta final.

Agradeço minha irmã **Paula**, que desde quando eu era pequena foi uma grande referência materna para mim, e tem-se tornado minha segunda mãe. Obrigada por acreditar sempre em mim, pela sua proteção, seu carinho, sua preocupação, e principalmente obrigada pelo seu amor. Você é um exemplo para mim. Minha jornada, tanto acadêmica quanto na vida, não é a mesma sem você. Serei grata eternamente e saiba que minha conquista e sonhos realizados tem muita influência sua,

principalmente o seu incentivo e apoio. Minha formatura eu dedico á você. Te amo muito. Muito obrigada por tudo.

Agradeço meu irmão **Giva**, que mesmo morando distante, tem se mostrado presente na minha jornada, e incentivando sempre quando as coisas pareciam difíceis e distantes.

Ao meu querido sobrinho **Andrews**, meu irmão de criação, meu grande amor. Você é o meu parceiro e o grande incentivador indireto que eu possa ter, por você eu tenho tido força em momentos de tristeza e desânimo, quero ser um exemplo para você. Obrigada pelos momentos descontraídos e felizes que temos, obrigada por tornar-me uma pessoa mais leve.

Ao meu orientador **Daltoé**, foi um grande privilégio o ter como orientador. Sou imensamente grata ao ser humano que você é, você tem algo especial que o torna, antes de mais nada, um ser humano exemplar, refletindo assim no profissional que você se tornou. Obrigada pela sua sutileza, atenção nas correções, seu auxílio, sua disposição em querer tornar tudo muito bem elaborado, e pela sua disponibilidade em todas as horas. Você foi maravilhoso, sempre prestes a ajudar, não medindo esforços para nada. Você é um grande mestre, um grande exemplo que irei seguir por toda a minha vida.

Ao meu grande amigo e dupla, **Guilherme**, que tive o prazer de conhecer e ter ao meu lado. Agradeço sua paciência, seu companheirismo e principalmente, sua amizade. Aprendi muito com você, seu lado humano, sua ética e solidariedade me fizeram acreditar que há pessoas de bom coração que não tem somente interesse próprio. Obrigada pela sua amizade e tenho certeza que a terei para a vida toda.

Aos meus amigos (as) **Edson, Bruna, Luana, Sarah** e todos os demais, muito obrigada pelo companheirismo, momentos de descontração e amizade nestes últimos anos. Foi um privilégio ter conhecido vocês e quero leva-los para toda a minha vida.

Agradeço aos **professores (as)** que passaram pela jornada acadêmica. Aos que tive como exemplo, obrigada por reforçar os valores que acredito. Aos que humanamente ou eticamente me decepcionaram, obrigada por me fazer acreditar mais firmemente em que tipo de profissional, e principalmente ser humano, eu não deva ser.

Aos meus **amigos e amigas** que foram meu acalento para os momentos que necessitei de descontração, alegria, apoio e incentivo.

Agradeço á todos que direta ou indiretamente me ajudaram, incentivaram e me deram apoio quando necessitei. Muito obrigada.

“Nunca, jamais desanimes, embora venham  
ventos contrários.”  
(Santa Paulina).



## RESUMO

Os dentes se desenvolvem a partir da interação entre dois tecidos embrionários, o tecido epitelial e o tecido ectomesenquimal subjacente, sendo esse processo de desenvolvimento dental conhecido como odontogênese. A perda ou ausência dental é altamente prevalente na população mundial e ainda resulta, na maior parte, de doenças infecciosas como a cárie e de doenças periodontais. Atualmente, a falta de um dente é suprida com o uso de materiais artificiais como pinos de titânio e coroas metalo-cerâmicas, por exemplo. Esses materiais são propensos à falhas mecânicas e seu emprego bem sucedido depende de vários outros fatores, dentre eles a biocompatibilidade e a osteointegração. Com o intuito de superar essas dificuldades, novas ideias e abordagens têm surgido, principalmente nos campos da engenharia de tecidos e pesquisa com células-tronco. Nesse sentido, diferentes grupos de pesquisa tem mostrado que já é possível manipular diferentes populações celulares *in vitro* com o intuito de posterior transplante *in vivo*, e consequente desenvolvimento de um dente por completo. À esse tipo de pesquisa dá-se o nome de “desenvolvimento da terceira dentição” ou de “biodentes”. O desenvolvimento de biodentes já vem sendo desenvolvido no âmbito científico utilizando-se diferentes técnicas, a exemplo da técnica de recombinação tecidual e da técnica que faz uso de arcabouços biodegradáveis como arcabouços. Além disso, essas diferentes técnicas vem testando diferentes populações celulares e descobrindo que determinados tipos celulares são mais eficazes para fazer uma ou outra função do que outros. Apesar do desafio, fazer dentes por completo, compostos por tantas estruturas especializadas, é uma realidade e não utopia. No entanto, sabemos que o caminho que vai da bancada do laboratório à prática clínica é longo e tortuoso e é sobre esses desafios da ciência que esse trabalho se propõem a fazer uma revisão de literatura.

**Palavras-chave:** Dentes. Odontogênese. Biodentes. Desenvolvimento.



## ABSTRACT

Teeth develop from the interaction between two embryonic tissues, the epithelial and the underlying ectomesenchymal. This process of teeth development is so called ontogenesis. Dental loss or absence it still world wide prevalent and mostly related to infectious diseases such as dental caries and periodontal disease. Currently, dental loss is still replaced by using artificial materials, such as titanium pins and metal-ceramics crowns, for example. These materials are susceptible of mechanical failures and their successful utilization also relay on other issues such as biocompatibility and osseointegration. Therefore, new ideas and approaches have emerged in the fields of tissue engineering and stem cell research field in order to avoid these problems. Likewise, different research groups have shown that it is already possible to manipulate different cell populations *in vitro* with further *in vivo* transplantation in order to generate a whole tooth. This type of research is known as "third dentition development" or "biotooth development". The biotooth development have been already developed in a scientific level using different techniques, such as the tissue recombination technique or ether the technique that uses of biodegradable scaffolds. In addition, these techniques have been testing different cell populations and finding that certain cell types are more effective to support one or another function than others. Although challenging, making whole teeth, made of so many specialized structures, is a reality and not utopia. However, we know that there is a long and hard way from the laboratory bench till clinical practice and it is exactly about these scientific challenges that this work will perform an review of the literature.

**Keywords:** Teeth. Odontogenesis. Biodentes. Development.





## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>CTE</b>	– Células-tronco epiteliais
<b>CTM</b>	– Células-tronco mesenquimais
<b>CTEM</b>	– Células-tronco embrionárias
<b>CTMO</b>	– Células-tronco da medula óssea
<b>CTDD</b>	– Células-tronco da polpa de dentes decíduos
<b>CTDP</b>	– Célula- tronco da polpa de dentes permanentes
<b>CTPA</b>	– Células-tronco apical da papila dental humana
<b>CTFD</b>	– Células-tronco do folículo dental
<b>CTLP</b>	– Células-tronco do ligamento periodontal
<b>PGA</b>	– poliglicolato
<b>PLLA</b>	– poli-L-lactato
<b>PLGA</b>	– ácido láctico-co-glicólico



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fases da Odontogênese. (A) Espessamento da lâmina dental no local de formação dos dentes. (B) Fase de botão. (C) Fase de capuz. (D) Fase de campânula.....	29
<b>Figura 2</b> - Análise histológica mostrando a formação de biodente pela técnica do uso de arcabouços (A). Em maior detalhe (B e C) observa-se formação de dentina (d), polpa dental (p), odontoblastos (od), bainha epitelial de Hertwig (hers) e esmalte (d).....	39
<b>Figura 3</b> - Biodente obtido do estudo de Duailibi .....	40
<b>Figura 4</b> - Análise histológica do biodente (A). No detalhe (B) observa-se formação de esmalte (e), dentina (d) e polpa dental (pu)....	40
<b>Figura 5</b> - Biodente desenvolvido com células da medula óssea associadas à células epiteliais da lâmina dental após 12 semanas de implante em cápsula renal. Foi evidenciado formação de osso (BO); ameloblastos produzindo esmalte (AM); odontoblastos (OD) e dentina (D) assim como de polpa dental (DP). .....	42
<b>Figura 6</b> - Diferentes tempos de análise da erupção fisiológica do biodente .....	43
<b>Figura 7</b> - Comparação entre a oclusão de um dente natural e do biodente com os seus antagonistas. ....	43
<b>Figura 8</b> - Tomografia computadorizada dos biodentes formados pela técnica dos arcabouços. Múltiplos elementos dentais em formação (A), com coroa e raiz bem formados e similares morfológicamente aos dentes naturais (B). ....	45



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
1.1	OBJETIVOS.....	23
1.1.1	Objetivo geral .....	23
1.1.2	Objetivos específicos.....	23
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>27</b>
3.1	O INÍCIO DE TUDO, A ODONTOGÊNESE .....	27
3.2	PRINCIPAIS FONTES CELULARES UTILIZADAS NO CONTEXTO DE BIOENGENHARIA DENTAL .....	30
3.2.1	Células-tronco da medula óssea .....	32
3.2.2	Células-tronco de dentes decíduos .....	32
3.2.3	Células-tronco de dentes permanentes .....	33
3.2.4	Células-tronco da papila apical.....	34
3.2.5	Células-tronco do folículo dental .....	34
3.2.6	Células-tronco do ligamento periodontal .....	35
3.2.7	Células epiteliais .....	35
3.3	BIOENGENHARIA DE TECIDOS.....	36
3.3.1	Bioengenharia de tecidos dentais .....	37
3.3.1.1	Técnica do uso de arcabouços .....	38
3.3.1.2	Técnica da recombinação tecidual .....	41
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>51</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Os dentes são órgãos que se desenvolvem nos maxilares dos vertebrados e que possuem funções primordiais na alimentação, defesa, fonética e relacionamento social. Apesar da morfologia dos dentes variar dependendo da espécie animal e da sua localização dentro dos maxilares (superior ou inferior, anterior ou posterior), os dentes são semelhantes entre si no que diz respeito ao seu desenvolvimento e componentes da sua estrutura (OLLEY et al., 2014; TUCKER; FRASER, 2014).

Curiosamente, no entanto, algumas espécies possuem inúmeras dentições ao longo do seu ciclo de vida (como os tubarões, por exemplo) ao passo que outras, apresentam um número limitado. Isso acontece com os seres humanos, que são capazes de produzir somente duas dentições ao longo das suas vidas: a decidua, durante a infância, e a permanente, que perdura durante a vida adulta (OLLEY et al., 2014; TUCKER; FRASER, 2014). Os dentes desempenham diversas funções, como a mastigação, ataque e defesa, fonação, estética e relações sociais (TEN CATE, 2001).

A perda ou ausência dental ainda é uma situação frequente e que resulta, na maioria dos casos, de doenças infecciosas frequentes como a cárie (BELTRAN-AGUILAR et al., 2005; FRAZÃO, 2012) e doenças periodontais (BELTRAN-AGUILAR et al., 2005) além de traumas (PEDRINI et al., 2011) e patologias (DALIRSANI et al., 2015).

Há milhares de anos já existem evidências de que as pessoas sentiam a necessidade de substituir os dentes perdidos ou ausentes assim como de reparar os dentes danificados. Para isso, faziam o uso de perfurações com ferramentas, uso de conchas, ossos, marfim, metais, dentre outros (ASBELL, 1988; ATILLA, 1992; CRUBZY et al., 1998; COLEMAN, 1970; FERREIRA; MAGINI; SHARPE, 2007; WESTBROEK; MARIN, 1998).

Durante os anos 1500 e 1800, os dentes eram comprados e coletados a partir de pessoas pobres ou de cadáveres para fins de alotransplante. Este método, que foi mais comum na Europa nessa época, extinguiu-se devido ao aparecimento de infecções secundárias (KAWAHARA; KAWAHARA, 2014).

Muitos séculos se passaram desde então e, no entanto, mesmo com os avanços científicos a perda desses órgãos vitais ainda é suprida com o uso de materiais artificiais tais como pinos de titânio e coroas metalo-cerâmicas (KOLA et al., 2015). Esses, apesar de cumprirem de maneira satisfatória com a sua função estética e mastigatória, são propensos à falhas mecânicas e dependem da osteointegração e

biocompatibilidade (LE GUÉHENNEC et al., 2007), os quais podem ficar comprometidos ao longo do tempo em decorrência de fatores sistêmicos (OATES et al., 2014) ou locais (YUE et al., 2015). Além disso, implantes dentais não têm ligamento periodontal ou polpa dental e muito menos inervação no seu interior ou periferia o que, consequentemente, compromete a função sensorial dessas estruturas (FERREIRA; MAGINI; SHARPE, 2007).

Em suma, apesar dos materiais utilizados na odontologia moderna serem biocompatíveis e de reestabelecerem, em parte, a estética e a função bucal, as técnicas utilizadas atualmente para substituir um elemento dental perdido ou ausente ainda estão distantes de reestabelecer na sua plenitude as propriedades físicas, mecânicas e biológicas dos dentes formados naturalmente (SARTAJ; SHARPE, 2006).

Nesse ínterim, com o intuito de superar essas dificuldades, novas ideias e abordagens têm surgido nos campos da engenharia de tecidos e pesquisa com células-tronco (DUAILIBI et al., 2004; IKEDA et al., 2009; OHAZAMA et al., 2004).

Há, na atualidade, diversas pesquisas em andamento com o intuito de alcançar a formação do germe dentário, seja parcial ou por completo. Esses estudos utilizam diferentes técnicas, assim como diferentes tipos celulares; mas o intuito é um só: promover a reabilitação oral do paciente por meio do uso de tecidos biológicos e reestabelecer, de melhor forma, o bem estar estético, funcional e social dos pacientes (DUAILIBI et al., 2004; OHAZAMA et al., 2004; IKEDA et al., 2009; VOLPONI; PANG; SHARPE, 2010).

Diferentes grupos de pesquisa tem mostrado, ainda que em caráter experimental, que já é possível manipular diferentes populações celulares *in vitro* com o intuito de posterior transplante *in vivo* e, consequente, desenvolver um dente por completo. À esse tipo de pesquisa tem-se dado o nome de “desenvolvimento da terceira dentição” ou de “biodentes” (DUAILIBI et al., 2004; NAKAO et al., 2007; OHAZAMA et al., 2004).

O desenvolvimento de biodentes já vem sendo testado, no campo científico, utilizando-se diferentes técnicas, a exemplo da técnica de recombinação tecidual (OHAZAMA et al., 2004) e da que faz uso de arcabouços biodegradáveis que servem como arcabouços (DUAILIBI et al., 2004).

Além disso, as diferentes técnicas de desenvolvimento da terceira dentição vem testando diferentes populações celulares e descobrindo que determinados tipos de células são mais eficazes para fazer uma ou



outra função do que outros (DUAILIBI et al., 2004; NAKAO et al., 2007; SONOYAMA et al., 2006; VOLPONI; PANG; SHARPE, 2010).

Nesse sentido, tem-se pesquisado as propriedades e possibilidades de uso de diversas populações de células-tronco tanto de origem odontogênica quanto não odontogênica para bioengenharia de tecidos dentais. A exemplo das odontogênicas, pode-se citar as células-tronco da papila apical dental (com potencial de se diferenciar em odontoblastos) (SONOYAMA et al., 2006); do ligamento periodontal (que além de formarem dentina, podem formar cimento e osso alveolar) (SEO et al., 2004), do folículo dental, capazes de se diferenciar em cementoblastos (HANDA et al., 2002a ; KÉMOUN et al., 2007) e da polpa de dentes (YANG et al., 2015). A exemplo das células-tronco de origem não odontogênica pode-se citar as células-tronco mesenquimais da medula óssea (capazes de formar cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) (OHAZAMA et al., 2004) e epiteliais da gengiva de adultos (eficientes para formar esmalte dental) (VOLPONI; PANG; SHARPE, 2010).

É nesse sentido que o presente trabalho pretende se desenvolver, fazendo uma revisão de literatura sobre as principais técnicas e células empregadas para o desenvolvimento da terceira dentição, suas características, vantagens e desvantagens, assim como um panorama do que já foi desenvolvido em nível laboratorial e uma comparação com o que se aplica ou com o que supostamente poderá ser aplicado clinicamente no futuro.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Fazer uma revisão de literatura acerca do assunto desenvolvimento da terceira dentição.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Descrever os principais métodos utilizados para a formação de dentes em laboratório.
- Descrever as principais fontes de células-tronco utilizadas para o desenvolvimento dos biodentes.

- Discutir as perspectivas do uso de biodentes em seres humanos, assim como os desafios técnicos e éticos sobre o assunto.

## 2 METODOLOGIA

O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados Pubmed ([www.pubmed.org](http://www.pubmed.org)) e Scielo ([www.scielo.org](http://www.scielo.org)), através da busca de artigos científicos, utilizando-se as palavras-chaves “dental stem cells”, “tooth engineering”, “teeth engineering”, “biotooth”, “dental engineering” e “dental tissue engineering” assim como de livros acadêmicos.

Foram selecionados os artigos publicados em língua inglesa ou portuguesa, a partir do ano de 1990, uma vez que foi a partir deste período que se realizaram os primeiros estudos consistentes na área de engenharia de tecidos (LANGER; VACANTI, 1993).

Após selecionados os artigos, os mesmos foram organizados por temas (célula-tronco dentais, célula-tronco não dentais, bioengenharia de tecidos dentais pela técnica da recombinação tecidual, bioengenharia de tecidos dentais pela técnica do uso de arcabouços, desenvolvimento dental (odontogênese), etc) e lidos.

As partes de interesse de cada artigo foram traduzidas para o português (no caso dos artigos escritos em uma língua estrangeira), descritas e organizadas por tópicos no programa de computador Word (Microsoft®).



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O INÍCIO DE TUDO, A ODONTOGÊNESE

Os dentes se desenvolvem a partir de um processo complexo de interações entre dois tecidos embrionários: o tecido epitelial, que reveste os rebordos alveolares da cavidade bucal, e o tecido ectomesenquimal subjacente. Esse processo de desenvolvimento dental é conhecido como odontogênese e se inicia ainda durante as primeiras semanas de vida intrauterina. Ela decorre de uma cascata de eventos moleculares que controlam o crescimento celular, migração, diferenciação e expressão de genes que, no fim, resultam no controle sobre a histo e morfodiferenciação dos tecidos dentais (TEN CATE, 2001).

A odontogênese culmina com a formação de diferentes tipos de células, as quais assumem funções específicas e passam a formar cada uma das estruturas dos dentes. Do órgão do esmalte, forma-se o folículo dental, estrutura essa que contém células especializadas, chamadas de ameloblastos, cuja função é produzir e secretar a matriz do esmalte dentário (THESLEFF, NIEMINEM, 1996). Já, a partir do tecido ectomesenquimal, originam-se os odontoblastos, capazes de produzir e secretar a outra parte do arcabouço mineralizado dos dentes, a dentina; os fibroblastos, cementoblastos e células que compõem a cavidade pulpar (como as células endoteliais e nervosas, por exemplo) (KATCHBURIAN; ARANA-CHAVEZ, 2004).

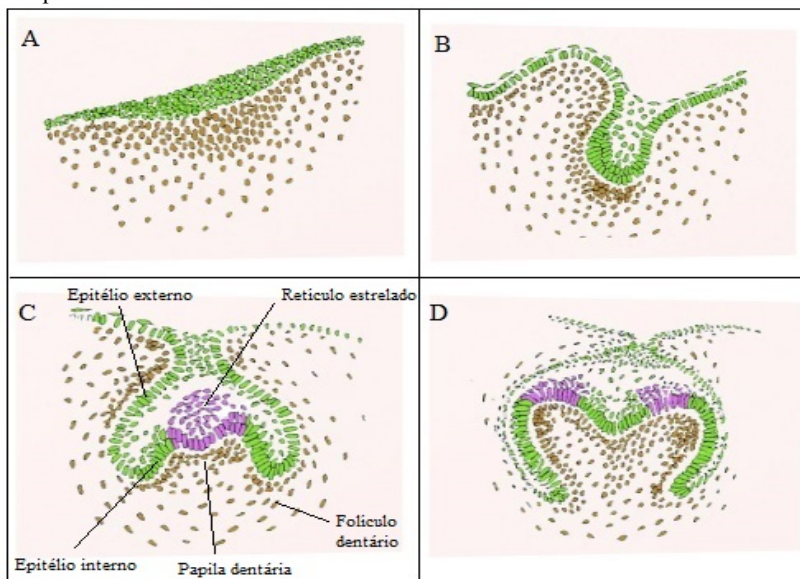
Durante o desenvolvimento embrionário forma-se na borda inferior do processo maxilar e superior do arco mandibular uma faixa contínua de epitélio espessado, com posicionamento correspondente aos dos futuros arcos dentários superior e inferior, chamada banda epitelial primária. A banda epitelial primária passa a fronteiras distintas de proliferação e que seguem o seu desenvolvimento paralelas entre si formando a lâmina dentária, que irá dar origem aos dentes, e a lâmina vestibular, que dará origem ao vestíbulo bucal (TEN CATE, 2001).

A partir daí, a lâmina dentária passa a ter áreas focais de maior proliferação celular que marcam o início e o local de desenvolvimento de cada dente (Figura 1A). Essas células em proliferação migram e invaginam para dentro do ectomesênquima subjacente. O aspecto morfológico desses agregados celulares invaginando-se para o tecido conjuntivo é conhecido como “fase de botão” do desenvolvimento dental (Figura 1B) (TEN CATE, 2001).

Após essa fase, o crescimento epitelial do germe passa a não ser uniforme, ocorrendo predominantemente nas laterais do mesmo. Isso acarreta no aparecimento de uma concavidade no centro da porção epitelial e faz com que o germe passe a ter o formato similar a um capuz, o que faz essa etapa do desenvolvimento dental ser conhecida como “fase de capuz” (Figura 1C). Nesta fase, a porção epitelial recebe o nome de órgão do esmalte e apresenta regiões morfológicamente distintas: o epitélio externo, o epitélio interno e o retículo estrelado sendo que este último compreende as células epiteliais frouxamente arranjadas, localizadas entre o epitélio interno e o externo. As células ectomesenquimais irão formar na fase de capuz duas populações celulares distintas em localização: um grupo de células condensadas abaixo do capuz, que formam a papila dentária e um grupo de células ao redor deste capuz, formando o folículo dentário (Figura 1C) (TEN CATE, 2001).

A “fase de campânula” (Figura 1D) é caracterizada por ser uma fase de morfo e de histodiferenciação, ou seja, é nesta etapa do desenvolvimento dental que ocorrem o início da determinação da futura forma do dente assim como da diferenciação das células epiteliais em ameloblastos e das células ectomesenquimais em odontoblastos, conforme descrito acima (TEN CATE, 2001).

**Figura 1** - Fases da Odontogênese. (A) Espessamento da lâmina dental no local de formação dos dentes. (B) Fase de botão. (C) Fase de capuz. (D) Fase de campânula.



Fonte: Adaptado de Lesot e Brook (2009).

Conforme TEN CATE (2001), a papila, o foliculo dentário e o órgão do esmalte juntos constituem o germe dentário e serão responsáveis pela formação de dente. O epitélio interno do órgão do esmalte, originará os ameloblastos que secretarão o esmalte; a papila dentária originará os odontoblastos que formarão a dentina e a polpa dentária; e, por fim, o foliculo dentário originará os cementoblastos, os fibroblastos e osteoblastos que formarão respectivamente o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar.

Os ameloblastos só começam a secretar a matriz para formação do esmalte dentário após a deposição da primeira camada de dentina e é esse fato que caracteriza a entrada do germe dentário na “fase de coroa” (AVERY, 2005; TEN CATE, 2001). É nesta, portanto, que se inicia a formação dos tecidos duros do dente: a dentina e o esmalte (TEN CATE, 2001).

Logo após o início do desenvolvimento da coroa, os epitélios interno e externo na região cervical do órgão do esmalte proliferam para formar uma camada de células epiteliais denominada bainha epitelial

radicular de Hertwig que por sua vez orientará a formação da raiz. Subsequentemente, inicia-se a fase de raiz propriamente dita, na qual ocorrerá a formação da dentina radicular e dos tecidos de sustentação do dente: cimento, ligamento periodontal e osso alveolar (KATCHBURIAN; ARANA-CHAVEZ, 2004; TEN CATE, 2001).

As células da camada interna da bainha epitelial radicular de Hertwig induzem a diferenciação das células ectomesenquimais da papila dental em odontoblastos que irão secretar a dentina radicular. Já as células epiteliais que induziram a diferenciação dos odontoblastos param a sua proliferação após começarem a secretar a matriz do esmalte. No entanto, devido à formação contínua de dentina radicular e o cessamento da proliferação das células epiteliais, estas perdem a sua coesão e ocorre a fragmentação de parte da bainha epitelial de Hertwig. Os restos epiteliais de Malassez que estão localizados no ligamento periodontal, são estas células fragmentadas da bainha epitelial de Hertwig (KATCHBURIAN; ARANA-CHAVEZ, 2004).

Através da fragmentação da bainha epitelial de Hertwig, há um contato entre as células do folículo dental com a matriz do esmalte. Esse contato, por sua vez, induz a diferenciação das células ectomesenquimais em cementoblastos que irão secretar cimento. As células foliculares próximas ao osso diferenciam-se em osteoblastos, formando osso alveolar. Já as células do centro dessa área (entre o cimento e o osso alveolar), diferenciam-se em fibroblastos e formam o ligamento periodontal (KATCHBURIAN; ARANA-CHAVEZ, 2004).

Entender, ao menos minimamente, como e dá a formação natural dos dentes é necessário para a discussão e aprofundamento a seguir das técnicas de reprodução do desenvolvimento pela ciência, culminando com a criação dos biodentes.

## 3.2 PRINCIPAIS FONTES CELULARES UTILIZADAS NO CONTEXTO DE BIOENGENHARIA DENTAL

Dentre algumas das fontes celulares utilizadas para a bioengenharia de dental estão alguns tipos de células-tronco. De acordo com Bluteau et al. (2008), uma célula-tronco é definida como uma célula que pode tanto produzir células diferenciadas (especializadas), quanto pode se dividir simetricamente e dar origem à uma célula-tronco indiferenciada idêntica a si.

As células-tronco podem ser primariamente classificadas de acordo com a sua origem em dois tipos: células-tronco embrionárias e células-tronco adultas. As células-tronco embrionárias são derivadas da



massa celular interna de blastocistos, as quais correspondem aos agregados celulares dos primórdios de desenvolvimento embrionário (primeiros 5 dias de desenvolvimento após formação do zigoto). Estas células são pluripotentes, ou seja, em teoria, dão origem aos tecidos derivados das três camadas germinativas primárias, isto é, ectoderme, endoderme e mesoderme (NEDEL et al., 2009; MAO, 2008; MAO; COLLINS, 2012; REZNICK, 2008). Apesar da sua alta capacidade de diferenciação (KIM et al., 2002; THOMSON et al., 1998), o seu uso clínico esbarra em questões éticas para aqueles que entendem essas células como parte de uma possível vida (YEN, SHARPE; 2008). Além disso, sabe-se que ainda não há um controle e entendimento completo sobre o processo de indução de diferenciação dessas células em tecidos específicos (THOMSON et al., 1998).

Em contrapartida, as células-tronco adultas estão localizadas, em teoria, em todos os tecidos celularizados, possuem uma plasticidade menor do que as embrionárias e dependente do local de onde se originam (BLUTEAU et al., 2008; MEIRELLES, CHAGASTELLES, NARDI, 2006). A exemplo disso, sabe-se que as células-tronco derivadas da medula óssea possuem capacidade de se diferenciarem em diversos tipos de células incluindo linhagens hematopoiéticas (LAMEGO et al., 2010), endotélio e mioblastos (FERRARI et al., 1998), células do tecido neural, fígado e coração (LAGASSE et al., 2000; MEZEY et al., 2000; ORLIC et al., 2001) ao passo que células-tronco da pele, por exemplo, podem formar um número muito menor de tecidos (FUCHS, 2016).

Nesse sentido, fica evidente que células-tronco adultas de tecidos diferentes possuem propriedades específicas e um potencial peculiar de diferenciação. Uma vantagem delas, no entanto, é que podem ser isoladas dos tecidos de um paciente, manipuladas/expandidas *in vitro* e reimplantadas no mesmo indivíduo sem rejeição imunológica (BLUTEAU et al., 2008), rejeição esta que ocorre atualmente com os aloenxertos ou xenoenxertos (ZARRINPAR et al., 2016).

Dentre algumas das células-tronco adultas mais estudadas, destacam-se as células-tronco mesenquimais da medula-óssea, muito utilizadas em transplantes em pacientes com leucemia (LAMEGO, 2010); células-tronco adiposas, isoladas a partir de gordura obtida por lipoaspiração, para fazer preenchimentos estéticos (DE UGARTE, 2003); células-tronco do cordão umbilical, que são obtidas a partir do sangue e dos tecidos do cordão umbilical do recém-nascido, como fonte de células-tronco hematopoiéticas para pacientes que necessitam de transplante de medula óssea (LAUGHLIN, 2001; GANG et al., 2004);

células-tronco epiteliais, que apresentam um alto nível de plasticidade tecidual e, quando transplantadas para um ambiente embrionário, podem originar todos os estratos germinativos após reprogramadas (LIANG; BICKENBACH, 2002) e células-tronco dentais, para bioengenharia de tecidos dentais, conforme discutido mais adiante (MAO, 2008; MIURA et al., 2003; BLUTEAU et al., 2008).

No contexto da bioengenharia tecidual, as principais fontes celulares almejadas para uso na bioengenharia de tecidos dentais ou de de biodentes por completo são descritas, em maiores detalhes, a seguir:

### **3.2.1 Células-tronco da medula óssea**

As células-tronco da medula óssea (CTMO) foram pioneiramente utilizadas no contexto de bioengenharia de tecidos dentais por Ohazama et al. (2004), onde se descobriu que ao serem combinadas com epitélio oral embrionário eram capazes de formar dentes por completo, contendo polpa, dentina e esmalte dentais.

Outros estudos mostram que as CTMO podem ainda ser capazes de regenerar ou reparar outros tecidos dentais. Como exemplo disso, podem formar *in vivo* cimento, ligamento periodontal e osso alveolar em defeitos periodontais (KAWAGUCHI, 2004).

A implantação de células-tronco da medula óssea, após cultivadas em meio de cultura e implantadas em defeitos periodontais de cães *beagle* também resultou numa melhora significativa na regeneração periodontal, sendo caracterizada por formação de novo osso, ligamento periodontal e cimento (LIU et al., 2016).

### **3.2.2 Células-tronco de dentes decíduos**

As células-tronco de dentes decíduos (CTDD) tem grande potencial de uso nos estudos e pesquisas com células-tronco e bioengenharia tecidual pois são oriundas de dentes naturalmente esfoliados e que normalmente iriam para descarte. Além disso, mostraram-se bastante versáteis no que se refere ao potencial de diferenciação (MAO, 2008; MIURA et al., 2003; WANG et al., 2010).

No ano de 2003, a equipe do Dr. Songtao Shi, um dentista pediátrico, foi pioneiro ao isolar as células-tronco da polpa de dentes decíduos. De maneira curiosa, tal feito foi realizado a partir da polpa dos dentes decíduos de sua filha (MIURA et al., 2003; SHI et al., 2005).

No âmbito da bioengenharia dental, as CTDDs se mostraram ter capacidade de formar osso, dentina, células neurais e adipócitos

(MIURA, 2003; WANG et al., 2010). CTDD de mini porcos se mostraram eficazes para regenerar tecido ósseo em defeitos cirúrgicos criados na mandíbula desses animais (ZHENG et al., 2009).

Outros trabalhos também já mostraram que as CTDD tem capacidade de formar um tecido com arquitetura e celularidade muito semelhantes ao da polpa dentária (CORDEIRO et al., 2008) além de diferenciarem-se em odontoblastos funcionais( capazes de gerar dentina tubular) e células endoteliais (SAKAI et al., 2010).

De maneira similar Rosa et al. (2013), usaram com sucesso as CTDD para regenerar a polpa dentária em canais radiculares de pré-molares humanos preservados subcutaneamente em ratos imunodeficientes.

### **3.2.3 Células-tronco de dentes permanentes**

Atenta-se para o potencial das células-tronco da polpa de dentes permanentes (CTDP) em contribuir para a regeneração tecidual dental e formação de um dente por completo baseado no fato de serem naturalmente envolvidas no processo reparador da dentina na dentição humana ao longo da vida (MITSIADIS; RAHIOTIS, 2004).

No estudo de Yang et al. (2015), foi demonstrada a viabilidade da regeneração de um dente utilizando células da polpa dentária de porcos associadas à células epiteliais. As CTDP foram diferenciadas em odontoblastos e osteoblastos e associadas com células epiteliais oriundas do tecido gengival de porcos. Esse associado celular foi semeado sobre a superfície de um arcabouço biocompatível e transplantados para o alvéolo mandibular do porco resultando na formação de dentes por completo contendo raiz, esmalte, dentina, cimento, odontoblastos e tecidos periodontais.

As primeiras células-tronco isoladas a partir da polpa dentária humana foram obtidas a partir de terceiros molares permanentes e exibiram alta capacidade de proliferação e formação de nódulos calcificados. Além disso, o transplante *in vivo* em camundongos imunocomprometidos demonstrou a capacidade de CTDP em gerar tecidos dentais mais organizados, como o complexo dentina/polpa (GRONTHOS et al., 2002).

Além dos odontoblastos e osteoblastos, as CTDP também mostraram-se capazes de se diferenciar em outros derivados de células mesenquimais *in vitro*, tais como adipócitos, condrócitos (KOYAMA et al., 2009; D'AQUINO et al., 2008) e neurônios funcionalmente ativos (ARTHUR et al., 2008; YALVAC et al., 2009).

### 3.2.4 Células-tronco da papila apical

O tecido da papila apical só está presente durante o desenvolvimento da raiz dental o que normalmente acontece antes do dente irromper na cavidade oral. Nesse sentido, dentes sisos impactados e extraídos poderiam representar uma ótima fonte de células-tronco da papila apical (CTPA) (HUANG et al., 2008).

As células-tronco da papila apical tem a capacidade de se diferenciarem em odontoblastos e adipócitos e apresentam taxas elevadas de proliferação *in vitro* (SONOYAMA et al., 2006; ZHANG et al., 2016). Quando transplantadas em mini porcos em conjunto com células-tronco do ligamento periodontal e arcabouços em formato de raízes dentais, formaram dentina e ligamento periodontal ao longo de toda a estrutura. Estes resultados sugerem que esta população de células poderia ser usada para criar uma raiz biológica funcional de modo semelhante a um implante metálico, com o intuito da realização de um capeamento futuro com uma coroa dental artificial (SONOYAMA et al., 2006).

### 3.2.5 Células-tronco do folículo dental

O folículo dental é um saco de tecido conjuntivo derivado de ectomesênquima presente em torno do órgão do esmalte e da papila dental do germe do dente em desenvolvimento antes de erupção (TENCATE, 2001). Acredita-se que ele contenha células progenitoras para os cementoblastos, ligamento periodontal e osteoblastos (HANDA et al., 2002a,b).

As células-tronco do folículo dental (CTFD) podem se diferenciar em cementoblastos *in vitro* (KÉMOUN, 2007) e são capazes de formar cemento *in vivo* (HANDA et al., 2002a).

CTFD isoladas a partir de terceiros molares humanos, são caracterizados pela sua fixação rápida em cultura e capacidade para formar nódulos calcificados compactos *in vitro*. Quando estas células foram transplantadas em animais imunocomprometidos, no entanto, houve pouca formação de cemento ou de osso (LIN; GRONTHOS; BARTOLD, 2008).

### 3.2.6 Células-tronco do ligamento periodontal

O ligamento periodontal conecta as raízes dos dentes ao osso alveolar circundante, exercendo as funções de transmitir as tensões mecânicas que o dente recebe, mantendo a sua própria homeostase assim como a do cimento também. Do ponto de vista de origem embriológico, as células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) se originam do folículo dental o qual é um tecido mesenquimal formado por células da crista neural (YAO et al., 2008).

As CTLP isoladas a partir do ligamento periodontal de dentes extraídos são capazes de se diferenciar em células semelhantes aos cementoblastos, adipócitos e a formar colágeno *in vitro*. Quando transplantadas em ratos imunocomprometidos, as CTLP progenitoras produziram cimento e o osso alveolar (SEO et al., 2004).

Wang et al. (2016) isolou CTLP provenientes de dentes extraídos ortodonticamente, e as cultivou em meio de cultura, onde as mesmas foram capazes de exibir uma atividade osteogênica e maior expressão de genes típicos de tecido periodontal.

### 3.2.7 Células epiteliais

Honda, Shinmura e Shinohara (2009), isolaram células epiteliais a partir do órgão do esmalte dental e as co-cultivaram com células da polpa dentária. Em um segundo momento, transplantaram essas células em ratos e observaram que tinham capacidade de produzir esmalte e dentina.

Volponi, Kawasaki e Sharpe (2013) foram pioneiros em demonstrar o isolamento e a cultura de uma população de células epiteliais gengivais adultas humanas, obtidas a partir de cirurgias de rotina que, quando combinadas com células mesenquimais odontogênicas embrionárias, formaram um dente por completo. Estas células foram capazes de contribuir plenamente para a formação das estruturas do dente, como dentina, esmalte e polpa dental.

Na pesquisa de Yang et al. (2015), foram utilizadas células epiteliais isoladas a partir da gengiva de porcos combinadas com células odontoblásticas derivadas de polpa de dente de rato. O agregado celular foi semeado sobre a superfície de um arcabouço os quais foram transplantados para o local do alvéolo onde houve a remoção prévia do germe dos dentes. Em 13,5 meses após a implantação, sete dos oito

porcos desenvolveu dentes, demonstrando assim, o sucesso na utilização dessas fontes de células-tronco epiteliais na bioengenharia dental.

Além delas, os restos epiteliais de Malassez também já demonstraram potencial para se diferenciarem em células semelhantes a ameloblastos e secretar matriz de esmalte, após serem cultivadas e combinadas com células da polpa dentária (SHINMURA et al., 2008) o que é de grande interesse para a bioengenharia de tecidos dentais, conforme explicado em mais detalhes, a seguir.

### 3.3 BIOENGENHARIA DE TECIDOS

A bioengenharia de tecidos nada mais é do que a engenharia aliada às ciências biológicas. O termo bioengenharia de tecidos foi primeiramente utilizado por Langer e Vacanti (1993) com o intuito de defini-la como um campo interdisciplinar da ciência que aplica os princípios de engenharia e ciências da vida no desenvolvimento de substitutos biológicos para restaurar, manter ou melhorar a função do tecido ou órgão.

Nos últimos anos, estudos envolvendo bioengenharia de tecidos apontam essas técnicas como sendo altamente promissoras para a tratamento de doenças humanas que vão desde a recriação de pele (TAKAGI et al., 2016) à fígado (TAKEBE et al., 2013). As abordagens utilizadas para gerar, empregar e analisar os resultados da bioengenharia de tecidos são cada vez mais diversificadas, sofisticadas e interdisciplinares (WOBMA; VUNJAK-NOVAKOVIC, 2016).

Sodian et al. (2010), demonstrou a geração, *in vitro*, de válvulas cardíacas humanas viáveis a partir de células-tronco do sangue do cordão umbilical. Takebe et al. (2013), recriaram um fígado totalmente funcional utilizando, para isso, células-tronco pluripotentes mesenquimais e células-tronco do cordão umbilical. Essas células foram cultivadas em arcabouços e os primórdios de fígados foram transplantadas em camundongos, onde foram capazes de formar novos vasos sanguíneos e produzir proteínas típicas de fígado humano.

A manipulação celular com o intuito de controlar a capacidade das células para se organizarem, crescerem, diferenciarem-se e formarem um tecido funcional é uma necessidade básica da bioengenharia de tecidos. O controle desse processo é complexo e requer sinais endócrinos, autócrinos e parácrinos, estudo das interações célula-célula e célula-matriz extracelular assim como, em muitos casos, desenvolvimento de arcabouços com materiais biocompatíveis (SCHELLER; KREBSBACH; KOHN, 2009). No que se refere ao

primeiro, os meios de cultura devem ter condutividade para fixação e proliferação de células progenitoras, capacidade de incorporar fatores indutivos do crescimento celular, dar subsídio para o desenvolvimento vascular e transporte de oxigênio/biomoléculas (SCHELLER; KREBSBACH; KOHN, 2009). Já a matriz extra-celular, possui um papel estrutural fundamental e fornece moléculas de adesão que interferem diretamente na função celular. Ao ser reproduzida, pode-se agregar à ela fatores indutores e de controle da comunicação célula-célula e célula-matriz tais como alguns peptídeos, por exemplo. Quanto aos arcabouços biocompatíveis, em especial, a simples forma de apresentação dos compostos químicos que as compõe (gel, espuma ou fibra, por exemplo) podem afetar significativamente a resposta biológica (SCHELLER; KREBSBACH; KOHN, 2009).

Tendo em vista ao grande número de possíveis aplicabilidades clínicas futuras da bioengenharia de tecidos em geral, pesquisadores tem estado a frente de pesquisas visando recriar dentes por inteiro, inclusive. Assim como os demais tipos de pesquisa, essas apresentam avanços promissores mas também esbarram em muitos desafios técnicos. É sobre as principais técnicas de bioengenharia de tecidos dentais que vem sendo estudadas, suas peculiaridades técnicas e perspectivas do seu uso futuro que serão desenvolvidos os tópicos a seguir.

### **3.3.1 Bioengenharia de tecidos dentais**

De acordo com Yuan (2011), bioengenharia de tecidos dentais pode resultar na confecção de dentes por completos ou reparo/regeneração de suas partes como, por exemplo, polpa dentária, esmalte, dentina e tecidos periodontais.

Conforme abordado anteriormente, o processo de formação natural de um dente se dá por meio da interação entre dois tecidos biológicos com origens embrionárias e características histológicas distintas, uma fonte epitelial e outra ectomesenquimal. Por isso, independentemente da técnica da bioengenharia de tecidos dentais escolhida por um ou outro grupo de pesquisas (essas técnicas serão abordadas em uma sessão própria, adiante) parte-se do pressuposto que se fazem necessárias ao menos duas populações celulares para se reproduzir a formação de um dente: as células- tronco epiteliais (CTE) que dão origem a ameloblastos, e as células tronco mesenquimais (CTM), que irão formar os odontoblastos, cementoblastos, osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal (BLUTEAU et al., 2008).

No contexto da bioengenharia de tecidos dentais, existe uma gama de fontes celulares sendo estudadas, sendo algumas de origem odontogênica como as células-tronco da polpa de dentes decíduos (MIURA et al., 2003), células-tronco da polpa de dentes permanentes (YANG et al., 2015), células-tronco da papila dental, células-tronco do ligamento periodontal, células-tronco do folículo dental e os restos epiteliais de Malassez; e outras não derivadas de tecidos odontogênicos como as células-tronco de medula óssea (OHAZAMA et al., 2004) e células-tronco epiteliais da gengiva (VOLPONI, PANG, SHARPE, 2010).

Com a ajuda dessas células objetiva-se hoje o desenvolvimento de dentes em partes (bioengenharia de tecidos dentais) ou por completo, o que é denominado pela ciência como desenvolvimento da “terceira dentição” ou de “biodentes”. Sobre esse último aspecto em especial, o desenvolvimento de biodentes, pode-se dizer que ele vem sendo realizado/estudado dentro de 2 técnicas ou vertentes principais, discutidas em maior detalhe a seguir:

### 3.3.1.1 Técnica do uso de arcabouços

Essa técnica tem por finalidade realizar o cultivo de células-tronco sobre arcabouços de materiais biocompatíveis para futuro transplante desse conjunto arcabouço-células *in vivo* (YOUNG et al., 2002; DUAILIBI et al., 2004).

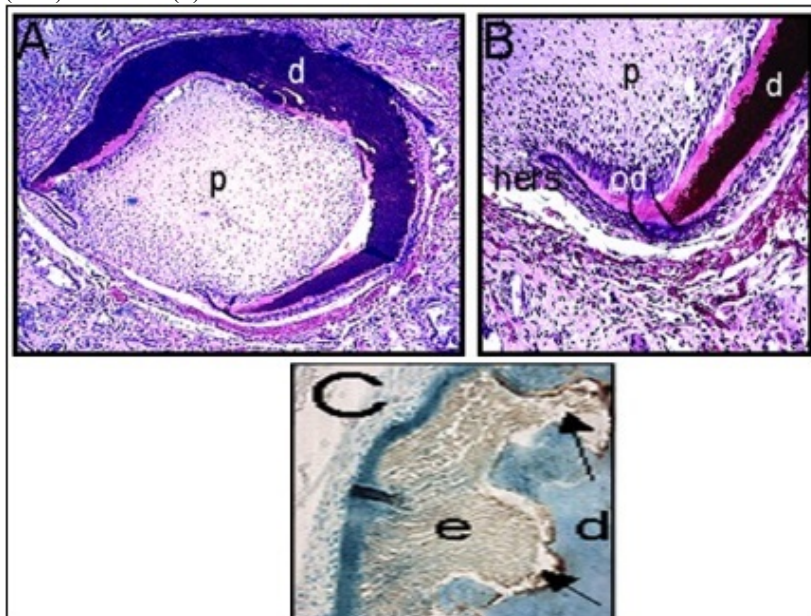
Os arcabouços que dão forma aos dentes são feitas, principalmente, a partir de polímeros biodegradáveis como PGA (poliglicolato), PLLA (poli-L-lactato) e o PLGA (ácido láctico-co-glicólico), por exemplo.

A primeira utilização desta técnica de bioengenharia de tecidos dentais foi realizada por Young et al., 2002, onde os arcabouços foram confeccionados no formato de dentes incisivos e molares humanos e sobre elas colocou-se células provenientes de germes dentais de terceiros molares de mini-porcos (previamente dissociadas enzimaticamente e cultivadas por alguns dias). O conjunto arcabouços-células odontogênicas foi transplantado no omento de ratos imunocomprometidos com a finalidade de que estas células tivessem um lugar propício para o seu desenvolvimento e não fossem rejeitadas pelo sistema imunológico do animal. Após 20 semanas de implantação, as análises histológicas revelaram a formação de pequenas coroas dentais (1-2mm) com formação de dentina, polpa dental (Figura 2A) e presença da bainha epitelial de Hertwig (Figura 2B). Os dentes transplantados por



períodos maiores de tempo (25 semanas) apresentavam rudimentos de esmalte dental (Figura 2C-D)

**Figura 2** - Análise histológica mostrando a formação de biodente pela técnica do uso de arcabouços (A). Em maior detalhe (B e C) observa-se formação de dentina (d), polpa dental (p), odontoblastos (od), bainha epitelial de Hertwig (hers) e esmalte (e).

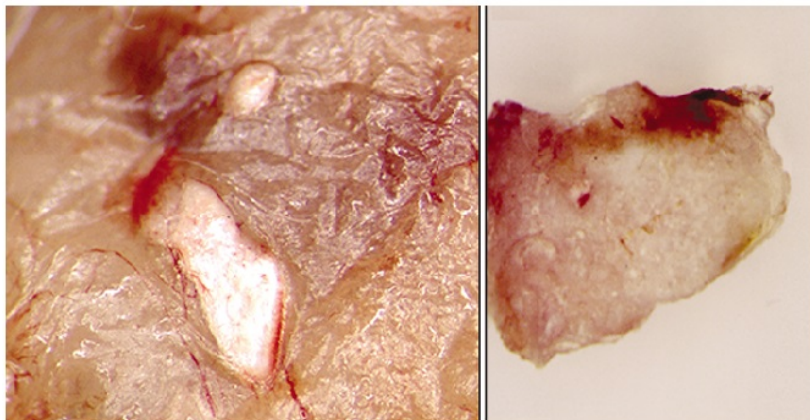


Fonte: YOUNG et al. (2002).

De maneira similar, DUAILIBI et al. (2004), cultivaram células de rato Lewis, com idade entre 6 e 12 meses, *in vitro*, durante 6 dias e compararam o uso de PGA e PLGA como materiais utilizados como arcabouços. Após 12 semanas de implante, houve formação de estruturas semelhantes a dentes (Figura 3), contendo dentina, esmalte, polpa, bainha epitelial de Hertwig em ambos os grupos (Figura 4).

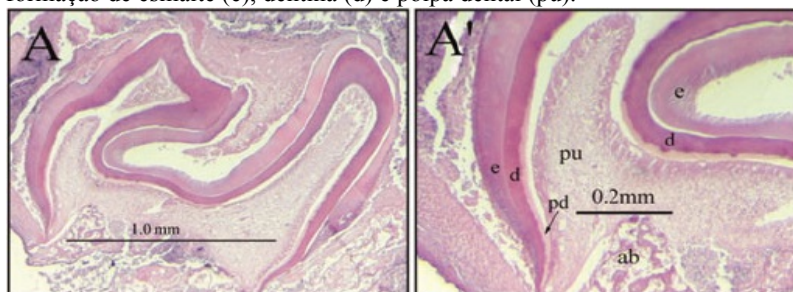
Posteriormente, pesquisadores conseguiram aprimorar a técnica e criaram não somente uma coroa dental mas, além dela, o início da formação de uma raiz e ligamento periodontal, culminando, com a formação de cimento e osso alveolar (ZHANG et al., 2005; DUAILIBI et al., 2008).

**Figura 3** - Biodente obtido do estudo de Duailibi



Fonte: DUAILIBI et al. (2004).

**Figura 4** - Análise histológica do biodente (A). No detalhe (B) observa-se formação de esmalte (e), dentina (d) e polpa dental (pu).



Fonte: DUAILIBI et al. (2004).

Mais recentemente, no estudo de Yang et al. (2015), foi demonstrada a viabilidade da regeneração de um dente inteiro utilizando miniporcos. A polpa dentária de incisivos superiores, caninos, pré-molares e molares foi extraída dos dentes destes animais, expandidas *in vitro* e diferenciadas em odontoblastos e osteoblastos. As células epiteliais foram isoladas a partir do epitélio gengival dos mesmos. As células epiteliais, odontoblastos, e osteoblastos foram semeadas sobre a superfície de um arcabouço biocompatível e transplantados para os alvéolos de germes molares recém extraídos. Decorridos 13,5 meses

após a implantação, sete dos oito porcos desenvolveram os biodentes com coroa, raiz e tecidos como esmalte, dentina, cimento e ligamento periodontal.

### 3.3.1.2 Técnica da recombinação tecidual

Esta técnica visa reproduzir o desenvolvimento dental de maneira similar ao que acontece durante a embriogênese, ou seja criando condições para interação entre um tecido epitelial e mesenquimal mas sem o uso de um arcabouço de suporte (OHAZAMA et al., 2004, 2010).

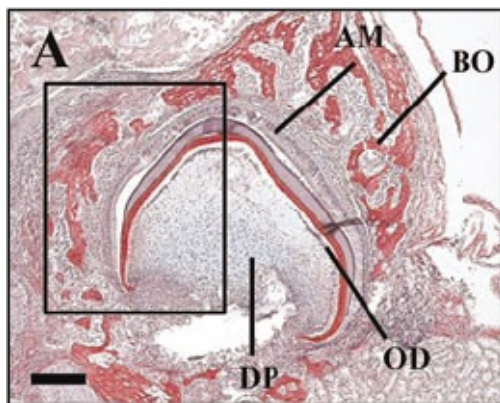
Esse conceito foi estabelecido pela primeira vez em 2004, e mostrou a formação de dentes resultante de combinações de células-tronco mesenquimais adultas e epitélio dental (OHAZAMA et al. 2004). As células epiteliais foram obtidas da lâmina dental de mandíbulas de embriões de camundongos e recombinadas com três diferentes fontes celulares: células-tronco embrionárias de rato, células-tronco neurais (isoladas a partir das medulas espinais de embriões de rato) e células da medula óssea (de tíbias e fêmur de ratos). As células foram agregadas numa massa sólida, revestidas por células do epitélio oral e cultivadas *in vitro* durante 3 dias. Após o período de cultura, os explantes foram transplantados sob as cápsulas renais de ratos durante 10 dias para permitir o desenvolvimento do biodente. Análises desses tecidos revelaram que tanto células-tronco embrionárias quanto as células-tronco neurais e as células-tronco de medula óssea responderam de forma idêntica a estimulação odontogênica, passando a expressar os genes *Msx1*, *Lhx7* e *PAX9* que são exclusivos de células mesenquimais odontogênicas (MACKENZIE; FERGUSON; SHARPE, 1992; GRIGORIOU et al., 1998; PETERS et al., 1998).

As recombinações utilizando células-tronco neurais e embrionárias resultaram, no entanto, em agregados celulares muito frágeis os quais tendiam à dissociação quando transplantados para as cápsulas renais. Já as recombinações utilizando células-tronco da medula óssea, no entanto, puderam ser facilmente transferidas para as cápsulas renais. Como controle, os autores mostraram que transplantes de epitélio oral embrionário sozinho ou células-tronco das 3 fontes não epiteliais sozinhas ou ainda que as recombinações entre epitélio oral embrionário e fibroblastos da linhagem NIH3T3 e C3H10T1 não produziu tecido ósseo ou qualquer outra estrutura semelhante à dentária. (OHAZAMA et al., 2004).

Esses primórdios embrionários de dentes de rato feitos por recombinação tecidual, foram também transplantados cirurgicamente

para a boca de um camundongo adulto, na região do diastema maxilar. À análise histológica, observou-se a formação de um biodente, com todas as estruturas e tamanho semelhantes ao primeiro molar adjacente (Figura 5). Vale ressaltar ainda que esse grupo de pesquisadores foi pioneiro ao fazer o transplante de biodentes nos maxilares (OHAZAMA et al., 2004).

**Figura 5** - Biodente desenvolvido com células da medula óssea associadas à células epiteliais da lâmina dental após 12 semanas de implante em cápsula renal. Foi evidenciado formação de osso (BO); ameloblastos produzindo esmalte (AM); odontoblastos (OD) e dentina (D) assim como de polpa dental (DP).



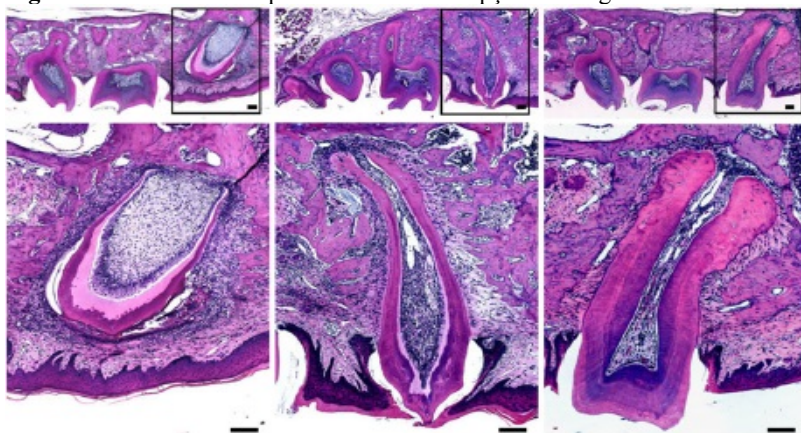
**Fonte:** Ohazama et al. (2004).

Em 2009, Ikeda et al. foram além e conseguiram formar um biodente que não só apresentava as características histológicas e morfológicas próximo ao de um dente natural, mas que foi capaz de entrar em erupção (Figura 6), permanecer em oclusão (Figura 7) e responder a estímulos ortodônticos. Esse trabalho utilizou células de germes dentários de molares que foram dissecados de mandíbulas de ratos. Os tecidos foram isolados e epitélio e mesênquima dissociados e estabelecidas condições para gerar um único primórdio de germe de dente molar controlando o número de células epiteliais e células mesenquimais. Os primórdios de germes dentários foram colocados sobre uma lâmina de cultura celular durante 5 dias *in vitro* e posteriormente transplantadas na região do primeiro molar superior em um rato. A ponta da cúspide do biodente se expôs na cavidade oral em aproximadamente 6 dias após o transplante. Testes mostraram que o

biodente apresentou a dureza dos tecidos mineralizados semelhante os dentes naturais, o que é importante para para a mastigação. Além disso, apresentava uma estrutura completa compreendendo esmalte, dentina, polpa dentária, cemento, ligamento periodontal, osso alveolar e vasos sanguíneos, além de inervação, indicando assim a possível resposta a estímulos nocivos, como dor (IDEKA et al., 2009).

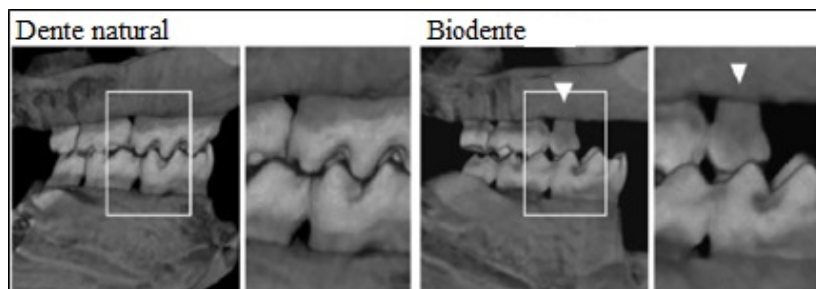
Foi analisada a expressão gênica de CSF 1 (fator estimulante de colônias 1), Pthr1 (receptor paratormônio da paratireoide 1) e QCA (fator estimulante de colônia 1) genes estes que presentes no mecanismo que regula a osteoclastogênese durante a erupção dentária. Esses genes foram detectáveis na via de erupção e na superfície entre o folículo dental do biodente e os tecidos ósseos circundantes, como é visto em dentes normais (IKEDA et al., 2009).

**Figura 6** - Diferentes tempos de análise da erupção fisiológica do biodente



Fonte: IKEDA et al. (2009).

**Figura 7** - Comparação entre a oclusão de um dente natural e do biodente com os seus antagonistas.

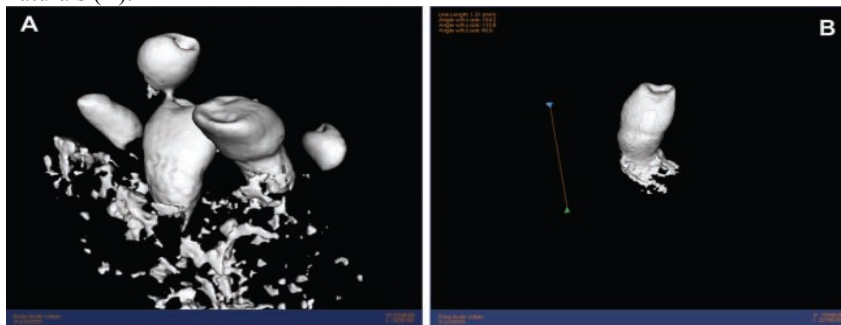


Fonte: IKEDA et al. (2009).

Assim como Ohazama et al. (2004) mostraram que uma fonte celular não odontogênica era capaz de formar os tecidos de origem mesenquimal de um dente, Volponi, Kawasaki e Sharpe (2013), provou que também é possível utilizar uma fonte de células epiteliais não odontogênicas para se formar os tecidos de origem ectodérmica dos dentes, tal qual o esmalte dental. Nesse estudo, foi coletado tecido gengival de pacientes, realizada separação enzimática das células epiteliais e co-cultivo das mesmas com células mesenquimais do germe dentário de camundongos. Após 7 dias de cultura, esses agregados celulares foram transplantados sob as cápsulas renais de ratos adultos imunocomprometidos. Após 6 semanas do implante observou-se histologicamente a presença de estruturas como dentina, esmalte, polpa bem vascularizado com odontoblastos. De maneira interessante, os autores comprovaram que as células com uma aparência cuboide visíveis na superfície do esmalte (células ameloblásticas em fase pós-secretora) eram as células epiteliais gengivais de origem humana. Em uma reconstrução em 3D dos biodentes, observou-se ainda que as estruturas formadas tinham morfologia muito próximas à de um dente normal (Figura 8A), com coroas e raízes bem desenvolvidas (Figura 8B). Além disso, havia uma densidade mais elevada de mineralização na parte coronal do dente na porção correspondente ao esmalte dental e região de menor mineralização e densidade correspondendo à dentina coronal e radicular. A partir de cada primórdio de germe dentário individualmente transplantado para cápsulas renais foram formados de 1 a 5 biodentes. Células epiteliais gengivais humanas e células mesenquimais de germe dentário de rato cultivadas nas mesmas condições e período de tempo acima separadamente uma das outras não resultaram na formação de estruturas semelhantes as de dente (VOLPONI; KAWASAKI; SHARPE, 2013).



**Figura 8** - Tomografia computadorizada dos biodentes formados pela técnica que faz o uso de arcabouços. Múltiplos elementos dentais em formação (A), com coroa e raiz bem formados e similares morfologicamente aos dentes naturais (B).



Fonte: Volponi, Kawasaki e Sharpe (2013).

#### 4 DISCUSSÃO

Apesar das excelentes perspectivas de desenvolvimento da terceira dentição com pesquisas *in vitro* e *in vivo*, nenhum ensaio clínico em humanos foi realizado até o momento. Nos estudos aqui abordados, foram utilizadas, principalmente, células de ratos, camundongos e porcos, cultivadas *in vitro* e depois transplantadas *in vivo* para estudar o possível desenvolvimento de um dente por completo ou de suas estruturas em partes. Segundo HONDA et al. (2008), considerando que existe apenas uma pequena diferença na expressão de genes de camundongos e de humanos no desenvolvimento de dentes, esses animais podem ser considerados como bons modelos de pesquisa e desenvolvimento nessa área (THESLEFF, 2003).

Os pesquisadores que realizaram experimentos a fim de obter um dente por completo verificaram que os germes dentários dos ratos se desenvolveram mais rapidamente (em torno de 12 semanas) (OHAZAMA et al., 2004) em comparação com as células de porco, que levaram em torno de 25 a 30 semanas (YOUNG et al., 2002). O fato de que dentes de ratos e camundongos formados por bioengenharia de tecidos se desenvolveram mais rapidamente do que dentes de suínos se explica pelo fato dos dentes naturais de cada uma dessas espécies também se desenvolverem em tempos diferentes. Isso sugere que o padrão de desenvolvimento dos biodentes provavelmente segue os

padrões de crescimento naturais destes dentes nos diferentes grupos de mamíferos (THESLEFF, SHARPE, 1997; DUAİLİBİ et al., 2004; SARTAJ; SHARPE, 2006).

O desenvolvimento dos dentes é um processo muito mais lento em humanos do que em camundongos ou porcos. A odontogênese do dente humano é cerca de oito vezes mais lenta que a de camundongos, por exemplo, e seu desenvolvimento pós-natal dura anos. Assim, enquanto o desenvolvimento de um biodente, implantação do mesmo *in vivo* e erupção na cavidade bucal em camundongos pode demorar algumas semanas, o tempo equivalente a criar um dente humano funcional poderá, muito provavelmente, levar um período de tempo muito maior (meses ou anos), do que os obtidos com experiências com animais de pequeno porte e organogênese mais acelerada (VOLPONI; PANG; SHARPE, 2010).

Além disso, muitos trabalhos mostram o desenvolvimento dos primórdios de biodentes em locais extra-maxilares que funcionam como biorreatores *in vitro* para posterior transplante, a exemplo da cápsula renal (OHAZAMA et al., 2004), câmara anterior do olho de camundongos (YOSHIKAWA, KOLLAR; 1981) e omento (YOUNG, et al., 2002) por acreditarem que esses lugares apresentavam bom aporte sanguíneo, com disponibilidade de nutrientes, e baixa imunidade. Outros trabalhos, no entanto, já conseguiram realizar o desenvolvimento dos biodentes diretamente nos maxilares (DUAİLİBİ et al., 2004; IKEDA et al., 2009), o que clinicamente seria o mais viável em humanos. Esses trabalhos servem também para demonstrar que os maxilares também podem representar um local adequado para desenvolvimento de biodentes sem a necessidade de um transplante prévio em outro local que não os maxilares.

Durante a odontogênese, sinais são trocados entre as células epiteliais e mesenquimais culminando com o desenvolvimento do dente. Os sinais-chave iniciais partem do tecido epitelial que recobre os arcos maxilares e mandibulares. Uma vez que as células mesenquimais recebem os sinais a partir do epitélio, enviam sinais de volta ao epitélio (THESLEFF, SHARPE; 1997). Ou seja, o processo de desenvolvimento dental é extremamente dinâmico e dependente de ao menos duas fontes celulares distintas. Desta forma, pelo menos até o momento, assume-se que o desenvolvimento dos biodentes também é dependente da reprodução desta sinalização de dois tecidos (epitélio-mesenquima), afim de estimular a histo e morfodiferenciação um do outro e se obter a formação de um dente por completo ou, ao menos, de em partes (SONOYAMA et al., 2006).



No experimento de Ohazama et al. (2004), a capacidade indutora de odontogênese do epitélio dental foi usada para induzir as células-tronco de medula óssea (e, portanto, não odontogênicas) a se diferenciarem em células odontogênicas e a participarem no desenvolvimento do biodente. Quase 10 anos após, nesse mesmo sentido, Volponi, Kawasaki e Sharpe (2013) mostraram que outras células não odontogênicas também podem sofrer diferenciação odontogênica, a exemplo de células epiteliais da gengiva de adultos, que foram capazes de se diferenciar em ameloblastos e produzir esmalte dental.

No entanto, em ambos os trabalhos supracitados, ambas as fontes de células não odontogênicas ainda necessitaram da indução de células odontogênicas para formarem tecidos dentais. O desafio na atualidade não está mais baseado então em se comprovar que fontes celulares de tecidos adultos não odontogênicos são capazes de formar tecidos odontogênicos, mas sim em se obter maneiras de que essas células adultas façam isso sem necessariamente serem estimuladas por fontes de células odontogênicas em fases iniciais de desenvolvimento.

Esse problema se torna ainda mais relevante quando levado em consideração que fontes de células odontogênicas em fases iniciais de desenvolvimento vão se tornando cada vez mais escassas ao longo da vida adulta. Uma possível fonte de células odontogênicas em adultos é a partir de dentes que se desenvolvem mais tardiamente, como os terceiros molares, por exemplo. Esses dentes são muitas vezes extraídos por questões funcionais ou ortodônticas e carregam consigo várias populações de células-tronco como, por exemplo, as da polpa dental, do folículo, da papila apical e do ligamento periodontal. Os dentes terceiros molares humanos, também conhecidos como dentes do siso, iniciam o seu desenvolvimento pós-natal, durante a infância, entre a idade de 5-6 anos, começam o processo de calcificação aproximadamente entre a idade de 7-10 anos e as suas raízes só completam o seu desenvolvimento por volta dos 18-25 anos de idade (VOLPONI, PANG, SHARPE, 2010; DUAİLİBİ et al. 2011).

No que tangencia a bioengenharia de tecidos dentais, sabe-se que cada população de células-tronco possui propriedades específicas de formar um ou outro(s) tecido(s) dental(s). Já foi demonstrado, por exemplo, que células-tronco da polpa de dentes decíduos e permanentes, da papila apical dental e do ligamento periodontal conseguem se diferenciar em odontoblastos e formar dentina (GRONTHOS et al., 2000, 2002; MIURA et al., 2003). As células-tronco da papila apical até apresentam uma taxa de proliferação mais elevada comparativamente às

do ligamento periodontal, mas as primeiras ainda se mostram mais eficazes na formação de biorraízes (SONOYAMA et al., 2006). Células-tronco do ligamento periodontal são ainda capazes de se diferenciarem em células semelhantes a cementoblastos e a produzir estruturas de cimento (SEO et al., 2004) assim como a expressarem genes responsáveis pela formação de tecido periodontal (WANG et al., 2016). Células-tronco do folículo dental são capazes de formar cimento, ligamento periodontal e osso (HANDA et al., 2002a,b). E, por fim, a formação de esmalte dental já foi comprovada ser possível a partir de células epiteliais do órgão do esmalte dental (HONDA; SHINMURA; SHINOHARA, 2009), de células epiteliais de gengiva de humanos (VOLPONI; KAWASAKI; SHARPE, 2013), de gengiva de porcos (YANG et al.; 2015) e de restos epiteliais de Malassez (SHINMURA et al., 2008). Vale dizer ainda que além de tecidos dentais e peridentais, alguns tipos de células-tronco ainda são capazes de formar tecidos não odontogênicos, como o adiposo e nervoso, por exemplo (MIURA et al., 2003).

Quando falamos da formação de dentes por completo, no entanto, todos os estudos encontrados na literatura trabalham com ao menos duas populações celulares, sendo uma de origem epitelial e a outra mesenquimal (DUAILIBI et al., 2004, OHAZAMA et al., 2004; ZHANG, 2005; IKEDA et al., 2009; VOLPONI; KAWASAKI; SHARPE, 2013, YANG et al., 2015).

As técnicas empregadas para se construir um biodente ainda precisam ser melhor estudadas e aprimoradas mas os seus feitos até aqui já dão uma prévia do que poderá ser aplicado clinicamente no futuro.

A técnica do uso de arcabouços biocompatíveis utiliza arcabouços em forma de dente constituídas principalmente de PLGA e PGA. Ambos materiais mostraram eficácia semelhante para suportar o crescimento de tecidos dentais ordenadamente e sem rejeição biológica (DUAILIBI et al., 2004), sendo portanto, fortes candidatos ao emprego clínico.

Apesar dos achados promissores de Young et al. (2002), Duailibi et al. (2004) e YANG et al. (2015) utilizando a técnica do uso de arcabouços biocompatíveis e conseguindo formar um biodente, a mesma ainda apresenta limitações como a não fidelidade no formato dos dentes, teoricamente, estabelecida pelos arcabouços.

A técnica de recombinação tecidual também encontra dificuldades no controle da forma dos biodentes mas dispensa o uso dos arcabouços. Usando essa técnica, o comprimento e as larguras dos biodentes foram comumente menores do que os outros dentes normais e

não se pode controlar a forma ou tipo de dente (dente anterior ou posterior, por exemplo). Um dos resultados mais bem sucedidos foi apresentado por Ikeda et al. (2009), com a formação de dentes com grande semelhança morfogênética aos dentes naturais e capacidade de erupção. Além disso, as fibras neurais que foram formadas e ligamento periodontal apresentaram potencial nociocetivo.

Uma coisa interessante de se analisar pensando na aplicabilidade clínica dos biodentes é o potencial mastigatório do mesmos, o que pode estar relacionado também a sua dureza. Nesse sentido, ao menos nos dentes formados por Ikeda et al. (2009), comprovaram ter dureza semelhante aos dentes naturais. Isso foi averiguado através do teste de dureza de *Knoop* que mede a dureza mecânica de materiais friáveis. A dureza de *Knoop* foi investigada tanto no esmalte quanto na dentina de dentes normais de ratos de 3 e 9 semanas de idade (pois ela aumenta significativamente em função do período pós-natal) e dos biodentes. Nesse mesmo artigo foi analisado também a capacidade de movimentação dos biodentes por forças ortodônticas assim como a localização dos osteoclastos e osteoblastos ao longo desse processo. Em 17 dias de análise, observou-se que o movimento foi igual à um dente normal. Histologicamente, houve mudanças morfológicas no ligamento periodontal em ambos os lados, apresentando compressão e tensão após 6 dias de tratamento tal qual ocorria nos controles.

Em suma, todas as técnicas de biogenharia tecidual apresentam desafios. Tanto a técnica do uso de arcabouços biocompatíveis como a técnica da recombinação tecidual investigam as melhores fontes celulares e tem dificuldade em controlar a forma do biodente, por exemplo. Sobre esse último aspecto, em especial, já há trabalhos que buscam entender e controlar o número de cúspides de dentes através de modulações gênicas resultando em incisivos multicuspídeos e molares com número de cúspides acima do normal (HU et al., 2005; 2006; OHAZAMA et al., 2010) mas aplicar isso ao contexto de bioengenharia dental ainda é um longo processo a ser percorrido.



## 5 CONCLUSÃO

A tecnologia da bioengenharia de tecidos dentais tem progredido notavelmente através dos diversos experimentos e estudos desenvolvidos ao longo das últimas décadas.

Ainda há muito o que descobrir, mas já nota-se a grande aplicabilidade que diferentes populações de células-tronco tem no contexto de bioengenharia de tecidos dentais, sejam elas para futuramente desenvolver um biodente ou reparar estruturas dentais que sofreram injúrias, por exemplo, visto aqui o sucesso da obtenção de um tecido semelhante ao pulpar obtido após o uso de células-tronco da polpa de dentes.

Um dos maiores obstáculos superados em relação às fontes celulares utilizadas para o desenvolvimento de biodente, foi a descoberta de que algumas populações de células-tronco não odontogênicas também são capazes de formar tecidos odontogênicos. Além disso, assume-se a possibilidade real de uso de células-tronco odontogênicas de dentes em formação do próprio paciente, como as células-tronco da polpa dental, do ligamento periodontal, do folículo dental e da papila apical de terceiros molares ou dentes supranumerários. O uso de células-tronco adultas do próprio paciente não seria somente ideal pelo fato de evitarem rejeição imunológica mas também evitariam possíveis questões éticas que envolvem o uso de células de outras espécies ou ainda de células-tronco embrionárias, às custas de embriões.

Dentre as técnicas atuais utilizadas para desenvolver um biodente, técnica do uso de arcabouços ou técnica da recombinação celular, na mesma proporção que há a necessidade de maiores estudos para entender o comportamento celular envolvido no seu desenvolvimento, há também uma grande caminhada para aprimorar o uso dessas técnicas.

Talvez, no futuro, seja possível entender e dominar ainda mais todos os mecanismos de interação epitélio-mesênquima durante a odontogênese e, através disso, obter o formato específico do biodente também.

Apesar de todas as dificuldades enfrentadas pelos pesquisadores que visam o desenvolvimento de biodentes e que ainda não puderam fazer ensaios clínicos em humanos, nota-se a grande importância do que já foi obtido até o momento e o reconhecimento de que esses trabalhos representam um marco na bioengenharia tecidual. A partir deles, espera-se que o desenvolvimento de biodentes deixe de ser apenas uma visão futurista e tornar-se uma realidade promissora em breve.



## REFERÊNCIAS

ARTHUR, Agnes et al. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. **Stem Cells**, Malden, v. 26, n. 7, p. 1787-1795, 2008.

ASBELL, Milton B. Dentistry: a historical perspective. **Dorrance Publishing Co.**, [S.l.], v.45, p. 52-60, 1988.

ATILLA, G. A rare find in Anatolia--a tooth implant (mid-sixth century BC). **The Journal of oral implantology**, [S.l.], v. 19, n. 1, p. 54-57, 1992.

AVERY, J. K. **Desenvolvimento e histologia bucal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 456 p.

BELTRAN-AGUILAR, Eugenio D. et al. Surveillance for dental caries, dental sealants, tooth retention, edentulism, and enamel fluorosis-United States, 1988-1994 and 1999-2002. **Morbidity and mortality weekly report**, [S.l.], v. 54, n. SS3, p. 1-43, 2005.

BLUTEAU, G. et al. Stem cells for tooth engineering. **Eur Cell Mater**, [S.l.], v. 16, p. 1-9, 2008.

COLEMAN, A. I. **A Syllabus in the Study of History of Dentistry**. LA: USC COD, 1970.

CORDEIRO, Mabel M. et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. **Journal of Endodontics**, [S.l.], v. 34, n. 8, p. 962-969, 2008.

CRUBZY, Eric et al. False teeth of the Roman world. **Nature**, [S.l.], v. 391, n. 6662, p. 29-29, 1998.

DALIRSANI, Zohreh et al. Oral verrucous carcinoma and ameloblastoma: a rare coincidence. **Iranian journal of otorhinolaryngology**, Mashhad, v. 27, n. 79, p. 159, 2015.

D'AQUINO, Riccardo et al. Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. **Stem Cell Reviews**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 21-26, 2008.

DE UGARTE, Daniel A. et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. **Cells Tissues Organs**, Switzerland, v. 174, n. 3, p. 101-109, 2003.

DUAILIBI, M. T. et al. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 83, n. 7, p. 523-528, 2004.

DUAILIBI, S. E. et al. Bioengineered dental tissues grown in the rat jaw. **J. Dent. Res.**, [S.l.], v. 87, n. 8, p. 745-50, 2008.

DUAILIBI MT, et al. Tooth tissue engineering: optimal dental stem cell harvest based on tooth development. **Artif Organs**. v. 35, n. 7, p. 129-35.

FERRARI, Giuliana et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. **Science**, Washington, v. 279, n. 5356, p. 1528-1530, 1998.

FERREIRA, C. F.; MAGINI, R. S.; SHARPE, P. T. Biological tooth replacement and repair. **Journal of Oral Rehabilitation**, Malden, v. 34, n. 12, p. 933-939, 2007.

FRAZÃO, Paulo. Epidemiology of dental caries: when structure and context matter. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 26, n. SPE1, p. 108-114, 2012.

FUCHS, Elaine. Chapter Nineteen-Epithelial Skin Biology: Three Decades of Developmental Biology, a Hundred Questions Answered and a Thousand New Ones to Address. **Current Topics in Developmental Biology**, [S.l.], v. 116, p. 357-374, 2016.

GANG, Eun Ji et al. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. **Stem Cells**, Malden, v. 22, n. 4, p. 617-624, 2004.

GRIGORIOU, M. et al. Expression and regulation of Lhx6 and Lhx7, a novel subfamily of LIM homeodomain encoding genes, suggests a role



in mammalian head development. **Development**, Cambridge, n. 125, p. 2063-2074, 1998.

GRONTHOS, S. et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 97, n. 25, p. 13625-13630, 2000.

GRONTHOS, S. et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. **Journal of Dental Research**, [s.l.], v. 81, n. 8, p. 531-535, 2002.

HANDA, K. et al. Cementum matrix formation *in vivo* by cultured dental follicle cells. **Bone**, [S.l.], v. 31, n. 5, p. 606-611, 2002b.

HANDA, Keisuke et al. Progenitor cells from dental follicle are able to form cementum matrix *in vivo*. **Connective tissue research**, [S.l.], v. 43, n. 2-3, p. 406-408, 2002a.

HONDA, Masaki J.; SHINMURA, Yuka; SHINOHARA, Yoshinori. Enamel tissue engineering using subcultured enamel organ epithelial cells in combination with dental pulp cells. **Cells Tissues Organs**, Switzerland, v. 189, n. 1-4, p. 261-267, 2009.

HONDA, M. J. et al. Tooth-forming potential in embryonic and postnatal tooth bud cells. **Med. Mol. Morphol.** [S.l.], n. 41, p. 183–192, 2008.

HU, B. et al. Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 85, n. 5, p. 416-421, 2006.

HU, B. et al. Dental Epithelial histo-morphogenesis in the mouse: positional information versus cell history. **Arch. Oral Biol.**, [S.l.], v. 50, n. 2, p. 131-136, fev. 2005.

HUANG, George T. J. et al. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. **Journal of Endodontics**, [S.l.], v. 34, n. 6, p. 645-651, 2008.

IKEDA, Etsuko et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 106, n. 32, p. 13475-13480, 2009.

KATCHBURIAN, E.; ARANA-CHAVEZ, V. **Histologia e embriologia oral**. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 2004. 372 p.

KAWAGUCHI, Hiroyuki et al. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. **Journal of periodontology**, Chicago, v. 75, n. 9, p. 1281-1287, 2004.

KAWAHARA, H.; KAWAHARA, D. **The history and concept of implant**. Tokyo: AQB Implant System, 2014.

KÉMOUN, Philippe et al. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) *in vitro*. **Cell and Tissue Research**, [S.l.], v. 329, n. 2, p. 283-294, 2007.

KIM, Jong-Hoon et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. **Nature**, [S.l.], v. 418, n. 6893, p. 50-56, 2002.

KOLA, Mohammed Zaheer et al. Surgical templates for dental implant positioning; current knowledge and clinical perspectives. **Nigerian Journal of Surgery**, Mumbai, v. 21, n. 1, p. 1-5, 2015.

KOYAMA, Noriaki et al. Evaluation of pluripotency in human dental pulp cells. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, [S.l.], v. 67, n. 3, p. 501-506, 2009.

LAGASSE, Eric et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. **Nature Medicine**, [S.l.], v. 6, n. 11, p. 1229-1234, 2000.

LAMEGO, Rosana M. et al. Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do Hospital das Clínicas da UFMG. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 108-115, 2010.

LANGER, R.; VACANTI, J. P. Tissue engineering. **Science**, Washington, n. 260, p. 920-6, 1993.

LAUGHLIN, M. J. Umbilical cord blood for allogeneic transplantation in children and adults. **Bone Marrow Transplantation**, New York, v. 27, n. 1, p. 1-6, 2001.

LE GUÉHENNEC, Laurent et al. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**, [S.l.], v. 23, n. 7, p. 844-854, 2007.

LESOT, H.; BROOK, A. H. Epithelial histogenesis during tooth development. **Archives of Oral Biology**, [S.l.], v. 54, p. S25-S33, 2009.

LIANG, L.; BICKENBACH, J. R. Somatic epidermal stem cells can produce multiple cell lineages during development. **Stem Cells**, Dayton, v. 20, p. 21-31, 2002.

LIN, N. H.; GRONTHOS, S.; BARTOLD, P. M. Stem cells and periodontal regeneration. **Australian Dental Journal**, Malden, v. 53, n. 2, p. 108-121, 2008.

LIU, Z. et al. Periodontal regeneration with stem cells-seeded collagen-hydroxyapatite scaffold. **Journal of Biomaterials Applications**, [S.l.], 2016.

MACKENZIE, A.; FERGUSON, M. W.; SHARPE, P. T. Expression patterns of the homeobox gene, Hox-8, in the mouse embryo suggest a role in specifying tooth initiation and shape. **Development**, Cambridge, n. 115, p. 403-420, 1992.

MAO, J. J.; COLLINS, F. M. **Stem cells**: Sources, therapies and the dental professional. [S.l.]: [S.n.], 2012.

MAO, Jeremy J. Stem cells and the future of dental care. **New York State Dental Journal**, New York, v. 74, n. 2, p. 20, 2008.

MEIRELLES, Lindolfo da Silva; CHAGASTELLES, Pedro Cesar; NARDI, Nance Beyer. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. **Journal of Cell Science**, [S.l.], v. 119, n. 11, p. 2204-2213, 2006.

MEZEY, Éva et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. **Science**, Washington, v. 290, n. 5497, p. 1779-1782, 2000.

MITSIADIS, T. A.; RAHIOTIS, C. Parallels between tooth development and repair: conserved molecular mechanisms following carious and dental injury. **J. Dent. Res.**, [S.l.], n. 83, p. 896-902, 2004.

MIURA, Masako et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, n. 10, p. 5807-5812, 2003.

NAKAO, Kazuhisa et al. The development of a bioengineered organ germ method. **Nature methods**, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 227-230, 2007.

NEDEL, Fernanda et al. Stem cells: therapeutic potential in dentistry. **J. Contemp. Dent. Pract.**, New Delhi, v. 10, n. 4, p. 1-11, 2009.

OATES, Thomas W. et al. The effects of elevated hemoglobin A 1c in patients with type 2 diabetes mellitus on dental implants. **The Journal of the American Dental Association**, Canada, v. 145, n. 12, p. 1218-1226, 2014.

OHAZAMA A, et al. A role for suppressed incisor cuspal morphogenesis in the evolution of mammalian heterodont dentition. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, Washington, v. 107, n. 1, p. 92-7, 2010.

OHAZAMA, A. et al. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 83, n. 7, p. 518-522, 2004.

OLLEY, Ryan et al. Expression analysis of candidate genes regulating successional tooth formation in the human embryo. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 5, p. 6-41, 2014.

ORLIC, Donald et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. **Nature**, [S.l.], v. 410, n. 6829, p. 701-705, 2001.

PEDRINI, Denise et al. Dentists' level of knowledge of the treatment plans for periodontal ligament injuries after dentoalveolar trauma. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 307-313, 2011.

PETERS, H. et al. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities.

**Genes Dev.**, [S.l.], n. 12, p. 2735-2747, 1998.

REZNICK, Jay B. Continuing education: stem cells: emerging medical and dental therapies for the dental professional. **Dentaltown Magazine**, [S.l.], p. 42-53, oct. 2008.

ROSA, V. et al. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 92, n. 11, p. 970-5, nov. 2013.

SAKAI, V. T. et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 89, n. 8, p. 791-796, 2010.

SARTAJ, Rachel; SHARPE, Paul. Biological tooth replacement. **Journal of Anatomy**, Malden, v. 209, n. 4, p. 503-509, 2006.

SCHELLER, E. L.; KREBSBACH, P. H.; KOHN, D. H. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. **Journal of Oral Rehabilitation**, Malden, v. 36, n. 5, p. 368-389, 2009.

SEO, Byoung-Moo et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. **The Lancet**, New York, v. 364, n. 9429, p. 149-155, 2004.

SHI, S. et al. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. **Orthodontics & Craniofacial Research**, Malden, v. 8, n. 3, p. 191-199, 2005.

SHINMURA, Yuka et al. Quiescent epithelial cell rests of Malassez can differentiate into ameloblast-like cells. **Journal of Cellular Physiology**, Malden, v. 217, n. 3, p. 728-738, 2008.

SODIAN, Ralf et al. Use of human umbilical cord blood-derived progenitor cells for tissue-engineered heart valves. **The Annals of Thoracic Surgery**, [S.l.], v. 89, n. 3, p. 819-828, 2010.

SONOYAMA, Wataru et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. **Plos One**, California, v. 1, n. 1, p. e79, 2006.

TAKAGI, Ryoji et al. Bioengineering a 3D integumentary organ system from iPS cells using an in vivo transplantation model. **Science Advances**, Washington, v. 2, n. 4, p. e1500887, 2016.

TAKEBE, Takanori et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. **Nature**, [S.l.], v. 499, n. 7459, p. 481-484, 2013.

TEN CATE, R. **Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 497 p.

THESLEFF, I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. **J. Cell. Sci.**, Cambridge, n. 116, p. 1647–1648, 2003.

THESLEFF, Irma; NIEMINEN, Pekka. Tooth morphogenesis and cell differentiation. **Current Opinion in Cell Biology**, [S.l.], v. 8, n. 6, p. 844-850, 1996.

THESLEFF, Irma; SHARPE, Paul. Signalling networks regulating dental development. **Mechanisms of Development**, [s.l.], v. 67, n. 2, p. 111-123, 1997.

THOMSON, James A. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. **Science**, Washington, v. 282, n. 5391, p. 1145-1147, 1998.

TUCKER, Abigail S.; FRASER, Gareth J. Evolution and developmental diversity of tooth regeneration. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, [S.l.], v. 25-26, p. 71-80, 2014.

VOLPONI, A. A.; SHARPE, P. T. The tooth—a treasure chest of stem cells. **British Dental Journal**, [S.l.], v. 215, n. 7, p. 353-358, 2013.

VOLPONI, A. Angelova; KAWASAKI, M.; SHARPE, P. T. Adult human gingival epithelial cells as a source for whole-tooth bioengineering. **Journal of Dental Research**, [S.l.], p. 0022034513481041, 2013.

VOLPONI, Ana Angelova; PANG, Yvonne; SHARPE, Paul T. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. **Trends in Cell Biology**, Maryland Heights, v. 20, n. 12, p. 715-722, 2010.

WANG, Jinsong et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. **Stem Cells and Development**, New Rochelle, v. 19, n. 9, p. 1375-1383, 2010.

WANG, Zhongshan et al. In vitro studies on human periodontal ligament stem cell sheets enhanced by enamel matrix derivative. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S.l.], 2016.

WESTBROEK, Peter; MARIN, Frédéric. A marriage of bone and nacre. **Nature**, [S.l.], v. 392, n. 6679, p. 861-862, 1998.

WOBMA, Holly; VUNJAK-NOVAKOVIC, Gordana. Tissue Engineering and Regenerative Medicine 2015: A Year in Review. **Tissue Eng. Part. B. Rev.**, New Rochelle, v. 22, n. 2, p. 101-13, apr.2016.

YALVAC, Mehmet E. et al. Potential role of dental stem cells in the cellular therapy of cerebral ischemia. **Current Pharmaceutical Design**, Beijing, v. 15, n. 33, p. 3908-3916, 2009.

YANG, Jing-wen et al. Dental pulp tissue engineering with bFGF-incorporated silk fibroin scaffolds. **Journal of Biomaterials Applications**, [S.l.], v. 30, n. 2, p. 221-229, 2015.

YAO, S. et al. Differentiation of stem cells in the dental follicle. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 87, n. 8, p. 767-771, 2008.

YEN, Amanda H. H.; SHARPE, Paul T. Stem cells and tooth tissue engineering. **Cell and Tissue Research**, [S.l.], v. 331, n. 1, p. 359-372, 2008.

YOSHIKAWA, D. K.; KOLLAR, E. J. Recombination experiments on the odontogenic roles of mouse dental papilla and dental sac tissues in ocular grafts. **Archives of Oral Biology**, [S.l.], v. 26, n. 4, p. 303-307, 1981.

YOUNG, C. S. et al. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 81, n. 10, p. 695-700, 2002.

YUAN, Zhenglin et al. Biomaterial selection for tooth regeneration. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, New Rochelle, v. 17, n. 5, p. 373-388, 2011.

YUE, C. et al. The implant infection paradox: why do some succeed when others fail? Opinion and discussion paper. **European Cells & Materials**, [S.l.], v. 29, p. 303, 2015.

ZARRINPAR, Ali et al. Individualizing liver transplant immunosuppression using a phenotypic personalized medicine platform. **Science Translational Medicine**, Washington, v. 8, n. 333, p. 333ra49-333ra49, 2016.

ZHANG, W. et al. Tissue engineered hybrid tooth–bone constructs. **Methods**, [S.l.], n. 47, p. 122-8, 2005.

ZHANG, Wen et al. Osteo-/odontogenic differentiation of BMP2 and VEGF gene-co-transfected human stem cells from apical papilla. **Molecular Medicine Reports**, [S.l.], v. 13, n. 5, p. 3747-3754, 2016.

ZHENG, Y. et al. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. **J. Dent. Res.**, [s.l.], v. 88, n. 3, p. 249-54, mar. 2009.